



UNIVERSITA' DI PISA
Dipartimento di Scienze Veterinarie
Laurea Specialistica in Medicina Veterinaria

***Isolamento e tipizzazione di miceti cheratinofili da cani da seguito e da
specie selvatiche cacciate***

Candidato: Romina Pallesi

Relatore: Prof. Francesca Mancianti

Correlatore: Dott. Simona Nardoni

ANNO ACCADEMICO 2013-2014

A mio padre Renzo

INDICE

- Riassunto/Abstract
- Parte generale
- Introduzione
- Caratteristiche: struttura, riproduzione e classificazione dei miceti
- Miceti come agenti patogeni

- Dermatofiti generalità
- Dermatofitosi negli animali da compagnia:
 - Epidemiologia
 - Segni clinici
 - Diagnosi
 - Terapia
 - Immunoprofilassi
- Dermatofitosi nell'uomo: classificazione clinica delle tigne

- Parte sperimentale:
 - Finalità del lavoro
 - Materiali e metodi
 - Risultati
 - Discussione e conclusioni
- Bibliografia
- Ringraziamenti

Abstract

The aim of this study was to investigate the occurrence of dermatophytes and keratinophilic fungi on the coat of 193 hunting dogs, 73 brown hares and 44 hedgehogs living in Tuscany by hair brush technique. All animals were apparently healthy. One hundred eleven out of 193, 22 out of 73 and 18 out of 44 hair samples gave positive culture results in dogs, brown hares and hedgehogs, respectively.

Trichophyton terrestre and *Chrysosporium* spp. were isolated from all three groups of animals while *Trichophyton ajelloi* and the zoophilic species *Trichophyton erinacei* whose natural reservoir is represented by hedgehog, were cultured from one dog each. Other isolated fungi were the environmental contaminants *Alternaria* sp., *Candida lipolytica*, *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. and *Scopulariopsis* sp.

On the basis of the results obtained, the investigated animals seem to play a limited epidemiological role as carriers of zoophilic dermatophytes. In addition, as many factors are implicated in dermatophytic infections, their epidemiological change from time to time could be hypothesized.

Key words: hunting dogs, brown hares, hedgehogs, dermatophytes, keratinophilic fungi

Nel presente lavoro di tesi è stata valutata la presenza di dermatofiti e funghi cheratinofili in campioni dermatologici ottenuti con la tecnica della spazzola da 44 ricci, 193 cani da caccia e 73 lepri apparentemente sani, residenti in Toscana.

Centouno campioni ottenuti da cane, 22 da lepre e 18 da riccio sono risultati positivi all'esame colturale. *Trichophyton terrestre* e *Chrysosporium* spp. sono stati isolati da ciascuno dei tre gruppi di animali inclusi nell'indagine. *Trichophyton ajelloi* e la specie zoofila *Trichophyton erinacei*, il cui serbatoio naturale è rappresentato dal riccio, sono invece stati isolati esclusivamente da esemplari di specie canina. Altri funghi ottenuti in coltura erano rappresentati dai contaminanti ambientali *Alternaria* sp., *Candida lipolytica*, *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. e *Scopulariopsis* sp.

Sulla base dei risultati ottenuti, il ruolo epidemiologico rivestito dalle specie animali oggetto del lavoro nel mantenimento e conseguente diffusione delle infezioni da dermatofiti appare limitato. Appare infine possibile confermare anche negli animali variazioni nel quadro epidemiologico delle infezioni da dermatofiti, così come riportato in letteratura per la specie umana.

Parte generale

Introduzione

I miceti sono organismi ubiquitari in grado di causare micosi nell'uomo e negli animali. Le dermatofitosi, in particolare, sono infezioni contagiose che interessano cute e annessi cutanei quali peli e unghie, causate da funghi cheratinofili e cheratinolitici appartenenti ai generi *Trichophyton*, *Microsporum* ed *Epidermophyton*.

In questo lavoro saranno trattati i principali aspetti delle dermatofitosi dovute ad agenti zoofili quali *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton erinacei*, con un'attenzione particolare nei confronti di quest'ultimo micete.

T.erinacei è stato isolato la prima volta nell'uomo nel 1960, dopo contatto con un riccio (Marples MJ et alii, 1960).

Questo dermatofita nell'uomo colonizza lo strato superficiale della pelle e degli annessi cutanei; nel riccio l'infezione è spesso asintomatica, ma può mostrare segni quali squame e croste soprattutto nella regione della testa (Chermette R. et alii 2008), (Rhee DY et alii, 2008) e perdita di aculei. I ricci infetti trasmettono il fungo all'uomo per contatto diretto o indiretto; è stata dimostrata anche la trasmissione da altri animali, soprattutto cani che comunque avevano avuto contatti con ricci.

Caratteristiche: struttura, riproduzione e classificazione.

I funghi, o eumiceti, sono organismi eucarioti con organizzazione nucleare e citoplasmatica che non differisce da quella propria delle cellule eucariote. Naturalmente hanno delle caratteristiche strutturali e biochimiche peculiari (Poli G. et alii, 1996): non possiedono clorofilla, non sono mobili (ad eccezione di alcuni tipi di spore) e possono crescere come singole cellule, nel caso dei lieviti, o come strutture pluricellulari nelle muffe (Mondello F., 2008).

Il soma cellulare fungino è chiamato *micelio*, una massa di filamenti strettamente intrecciati, le *ife* (Mondello F., 2008).

L'unità di base strutturale è, quindi, rappresentata dall'*ifa*, filamento mono o pluricellulare la cui forma e dimensione variano nei differenti gruppi fungini (Rambelli A., 1981).

Il *micelio*, derivante dalla germinazione delle spore, o di frammenti ifali (Rambelli A., 1981), è immerso nella sostanza organica ambientale o nel tessuto di un organismo vivente da cui le cellule, tramite rilascio di enzimi, assorbono nutrienti (Mondello F., 2008).

I funghi sono dotati di una *parete cellulare* rigida, alla cui composizione partecipano: polimeri polisaccaridi insolubili, come la *chitina*, i beta-glucani e la cellulosa che costituiscono la matrice rigida; polisaccaridi solubili e glicoproteine che costituiscono i determinanti antigenici di superficie.

In virtù della propria rigidità, la parete conferisce stabilità morfologica alla cellula fungina, oltre a mediarne l'interazione con l'ambiente esterno, con le altre cellule e con l'ospite (Poli G. et alii, 1996), (Caretta G., 2012).

La diversa composizione chimica della parete fungina ha permesso di suddividere i funghi in gruppi distinti, in accordo con gli attuali sistemi di classificazione: Ascomiceti e Basidiomiceti presentano nella parete cellulare chitina e glucano, gli Zigomiceti chitina e chitosano, i lieviti mannano e glucano.

Il numero degli strati della parete cellulare e la composizione variano in relazione alle condizioni ambientali, al substrato di crescita e al momento fisiologico del ciclo vitale .

Il citoplasma è delimitato da una *membrana fosfolipidica* contenente proteine e steroli, in particolare l'*ergosterolo* (Caretta G., 2012).

La membrana citoplasmatica svolge funzioni di permeabilità per la diffusione dei soluti e per il trasporto attivo e passivo di varie sostanze (Poli G. et alii, 1996).

Tutti i funghi hanno enzimi lisosomiali che digeriscono le cellule danneggiate e aiutano i funghi parassiti ad invadere l'ospite. Molti miceti sintetizzano e conservano granuli di glicogeno e alcuni, come i lieviti, possiedono *plasmidi* (Mondello F., 2008).

La nutrizione dei miceti è *eterotrofica*, con assorbimento di sostanze organiche e minerali. Questo metabolismo li costringe ad un tipo di vita dipendente; in quanto organismi eterotrofi, i funghi possono essere *saprofiti*, *parassiti* e *simbionti*.

I *saprofiti* sono quei funghi che decompongono sostanza organica animale e vegetale, i *parassiti* sono funghi che vivono a spese di altri organismi ed infine i *simbionti* sono quelli che, vivendo in simbiosi con altri organismi, ne traggono nutrimento, assicurando un uguale vantaggio anche all'altro componente del rapporto simbiotico (Rambelli A., 1981).

Per le loro richieste energetiche utilizzano la maggior parte dei composti di carbonio come zuccheri, aminoacidi, alcaloidi, mentre l'azoto minerale in forma di nitrati e sali

di ammonio, viene fornito da aminoacidi, peptidi e altre molecole azotate.

I funghi sono generalmente organismi *aerobi*, alcuni sono *aerobi-anaerobi facoltativi*, mentre nessuno è *anaerobio obbligato* (Poli G. et alii, 1996).

Riproduzione

I miceti possiedono due tipi di riproduzione: sessuata o perfetta e asessuata o imperfetta (Poli G. et alii, 1996).

Il processo riproduttivo è assicurato dalla presenza di cellule immobili specializzate dette *spore*: possono variare enormemente in grandezza, forma, colore e modo di prodursi, esogene ed endogene. Possono derivare dalla fusione di due nuclei di cellule parentali aploidi (spore sessuate o perfette) a cui segue la formazione di uno zigote e il successivo ritorno allo stato aploide, o direttamente per divisione mitotica di una singola cellula del micelio (spore asessuate o imperfette) (Caretta G., 2012).

Il processo sessuale inizia con la fusione dei gameti di sesso o polarità opposte, (+) il femminile e (-) il maschile o di ife vegetative indifferenziate. Si riconoscono tre tipi di *spore sessuate*, definite, in base alla struttura che le produce, in: ascospore, basidiospore e zigospore (Poli G. et alii, 1996), (Caretta G., 2012).

Le *ascospore* si formano per meiosi all'interno di una sporocisti detta *ascoma* e la disseminazione delle spore è preceduta dalla lisi dell'ascoma.

Nelle *basidiospore*, la fusione nucleare avviene dentro una struttura piriforme o clavata chiamata *basidio*. Le spore si differenziano successivamente sulla superficie esterna del basidio, supportate da un breve filamento (sterigma); da ogni basidio originano quattro basidiospore (Poli G. et alii, 1996).

L'ascoma e il basidioma sono strutture formate da tessuti semplici o complessi che i

funghi elaborano come strutture protettive (Caretta G.,2012).

Le *zigospore* invece, originano da due estremità ifali che si affrontano e si uniscono dopo la lisi delle rispettive pareti cellulari. Da questa fusione nucleare origina una singola zigospora separata da un setto dal restante micelio.

Le *spore asessuate* dei funghi a micelio settato si chiamano *conidi* e si distinguono in due gruppi: *talliche* e *blastiche*.

Le *spore talliche* si formano direttamente dal micelio, sia esso costituito dalle ife dei funghi filamentosi, sia dalla singola cellula dei lieviti.

Ne sono un esempio le blastospore che nascono per gemmazione delle cellule dei lieviti. Le clamidospore sono generate dalla modificazione di una struttura tallica preesistente, ifale o pseudoifale ed hanno una posizione intercalare. Se terminali prendono il nome di aleuriospore. Le aleuriospore sono prodotte da funghi dermatofiti. Si formano all'estremità di un'ifa settata o di una sua breve diramazione, per diretta conversione della cellula apicale in una struttura espansa, l'aleuria: questa si accresce, la sua parete si ispessisce ed un setto basale la separa dalla cellula subterminale. Quest'ultima, successivamente, va incontro a lisi facilitando il distacco dell'aleuria. Le microaleurie sono unicellulari di piccole dimensioni (pochi μm), le macroaleurie sono più grandi (fino a decine di μm).

Un terzo tipo di spora che si differenzia per conidiogenesi tallica è l'artrospora: deriva dalla frammentazione di un filamento ifale preesistente, che dà luogo alla frammentazione dell'ifa stessa in spore rettangolari.

Le *spore blastiche* sono prodotte da ife specializzate denominate ife conidiofore. Queste si formano all'apice dei conidiofori e se ne distaccano per costrizione del punto d'attacco. Possono essere prodotte singolarmente, a grappoli, a catene, e possono

essere sessili o peduncolate.

Gli zigomiceti presentano un particolare tipo di ifa specializzata, lo sporangioforo, che si allarga in corrispondenza dell'estremità apicale, in una struttura globosa: lo sporangio. All'interno di quest'ultima struttura, si formano numerosissime sporangiospore che vengono liberate per rottura della parete dello sporangio.

La crescita in colonia dei miceti presenta importanti variazioni che dipendono in primo luogo dalla specie in causa. Molti miceti crescono formando colonie filamentose, per lo più pigmentate, mentre altri si sviluppano in colonie lisce e glabre: i primi sono i *miceti filamentosi*, gli altri sono i *lieviti*. Alcuni funghi sono in grado di crescere in entrambe le forme a seconda dei fattori ambientali.

Miceti filamentosi

In presenza di un substrato adatto, le spore danno origine ad una estroflessione tuboliforme, il cosiddetto *tubo germinativo*, che accrescendosi per allungamento apicale, si trasforma in una struttura filamentosa cava, denominata *ifa*.

Durante il processo di allungamento dell'ifa, ad intervalli più o meno ravvicinati, si formano dei setti trasversali dovuti ad incomplete introflessioni della parete e della membrana citoplasmatica: in questo modo l'ifa diviene settata, suddivisa in segmenti comunicanti. Alcuni miceti non hanno ife settate: gli *zigomiceti* hanno ife continue o cenocitiche.

In una colonia fungina le ife si allungano, ramificano e si intrecciano dando vita ad uno strato compatto, il *micelio*: la porzione che aderisce al substrato assorbendo da esso sostanze nutritive è chiamato micelio vegetativo, mentre la porzione che si eleva al di sopra del substrato è il micelio aereo o riproduttivo in quanto deputato a originare

spore, direttamente o mediante ife specializzate.

Macroscopicamente le colonie sono variamente pigmentate e possono presentare aspetto lanoso, cotonoso, granulare, vellutato...

Lieviti

Sono funghi unicellulari che per gemmazione danno origine alle blastospore. Queste, a maturazione avvenuta, si separano dalla cellula madre ricostituendo lo stato unicellulare tipico dei lieviti e, a loro volta, daranno origine per gemmazione ad altre blastospore.

Le colonie formate con questo tipo di riproduzione si presentano lisce e glabre (Poli G. et alii, 1996).

Classificazione

La classificazione dei funghi si basa sulla modalità di formazione delle spore sessuate per i miceti che ne sono provvisti; quelli di cui è nota solo la forma asessuata (anamorfa) sono collocati nel taxon dei Deuteromiceti, lieviti e funghi filamentosi a micelio settato.

I principali Phyla sono:

- *Ascomiceti*. Hanno una riproduzione sessuata per ascospore e asessuata per spore talliche o blastiche. I miceti filamentosi appartenenti a questa classe hanno micelio settato.
- *Basidiomiceti*. La riproduzione sessuata avviene per basidiospore, le ife sono

sette. Questa classe comprende anche i funghi macroscopici, eduli o tossici.

- *Zigomiceti*. Hanno riproduzione sessuata per zigospore e asessuata per sporangiospore. Le ife sono asette o paucisette.

Miceti come agenti patogeni

Come per virus e batteri, anche per i miceti la possibilità di causare una malattia è in funzione di diversi fattori, alcuni inerenti al micete stesso, altri all'ospite.

Considerando le potenzialità patogene dei miceti e le capacità di adattamento delle spore fungine ad un habitat diverso da quello naturale, la capacità di provocare una patologia dipende, in larga misura, dalle difese che l'ospite è in grado di opporre.

Numerose sono le specie fungine ubiquitarie che non provocano infezione nei soggetti adulti e sani, le cui normali difese siano sufficienti ad impedirne la crescita nei tessuti.

Si può quindi evincere che le micosi sono infezioni per lo più opportunistiche.

Se lo stato di salute risulta alterato, l'organismo può essere predisposto ad una infezione fungina dovuta a miceti a bassa o nulla patogenicità; è questo il caso delle *micosi secondarie*. Si verificano, generalmente, in soggetti neonati, anziani, durante la gravidanza, in stati di malnutrizione, nei soggetti immunodepressi, in presenza di altre patologie e in tutti quei casi in cui l'organismo sia sottoposto a stress eccessivo.

Il meccanismo di infezione delle micosi è duplice: endogeno ed esogeno.

La normale flora microbica della cute e delle mucose comprende alcune specie fungine come la *Candida albicans*, facilmente reperibile sulle mucose del tratto gastrointestinale e della vagina, e la *Malassezia pachydermatis* presente su cute e condotto uditivo esterno: le infezioni sostenute da questi miceti sono endogene, al contrario delle altre micosi che, causate da agenti eziologici saprofiti dell'ambiente esterno, sono esogene.

Dal punto di vista della sede, le micosi si suddividono in *superficiali*, *sottocutanee* e *profonde*.

Nelle *micosi superficiali* il microrganismo si localizza negli strati superficiali della cute, delle unghie o dei peli; si considerano superficiali anche le micosi localizzate alle mucose visibili. In genere sono accompagnate da una reazione infiammatoria locale.

Le *micosi sottocutanee* sono dovute all'ingresso del micete nell'organismo per via transcutanea in seguito a traumi o ferite superficiali. Comprendono entità eziologiche eterogenee, ma tutte caratterizzate dallo sviluppo di una lesione in corrispondenza del punto di ingresso del microrganismo nei tessuti dell'ospite e che successivamente coinvolge nella risposta infiammatoria i tessuti contigui, ma con scarsa tendenza alla generalizzazione.

Molto più gravi, sono le *micosi profonde* che talora possono diventare *sistemiche*. In questi casi la via di ingresso è generalmente digerente o inalatoria, con interessamento dell'apparato respiratorio e possibile e successiva disseminazione dell'infezione in altri organi ed apparati (Poli G. et alii, 1996).

Dermatofiti

I dermatofiti sono divisi in tre gruppi, sulla base del loro habitat naturale: geofili, zoofili, e antropofili.

I *geofili* vivono nel terreno e il più comune dermatofita geofilo riscontrato in cani e gatti è il *Microsporum gypseum*.

I dermatofiti *zoofili* sono adattati a vivere sugli animali e raramente si riscontrano nel suolo; il più comune agente infettivo rilevato negli animali da compagnia è il *Microsporum canis*, mentre tra i dermatofiti zoofili adattati a vivere su piccoli roditori e ricci sono *Trichophyton mentagrophytes* e *T. erinacei*, quelli che possono essere osservati su mammiferi domestici (Scott D.W. et al., 2001), (Foil C.S. 1998).

I dermatofiti *antropofili* sono adattati a vivere sugli umani. Non sopravvivono nel terreno e possono esser causa di zoonosi inversa quando cani e gatti vengono contagiati da una persona infetta (Weitzman I et alii, 1998).

Tutti i dermatofiti sono coltivabili in vitro.

La struttura morfologica è estremamente semplice: presentano un micelio filamentoso, i cui filamenti settati, semplici o ramificati, raggiungono la dimensione di 2-4 µm.

Gli artroconidi sono generati dalla frammentazione dei filamenti ed hanno dimensioni comprese tra 2-3 e 12-18 µm di diametro, a seconda della specie.

Possono parassitare il pelo in due modalità diverse:

1. filamenti presenti internamente al pelo con artroconidi sulla superficie del pelo che cade perché spezzato; questo modello è detto *Ectothrix* e le specie che lo presentano danno origine alle cosiddette “tighe depilanti”.
2. filamenti ed artroconidi presenti internamente all'asta del pelo; questo tipo è

detto *Endothrix* e il pelo cade per avulsione totale secondo le modalità della “tigna tonsurante”, tipica del *T. tonsurans*.

In linea generale si può affermare che tra i dermatofiti zoofili soltanto il *T. rubrum* può talvolta presentare la forma “tonsurante”; negli altri casi, le dermatofitosi sono di tipo “depilante”.

I dermatofiti si nutrono di cheratina, uno dei componenti dei peli, e dello strato corneo dell'epidermide.

L'infezione origina dalla germinazione dei conidi sulla superficie della pelle. I miceli filamentosi così formati, attraversano lo strato corneo della pelle, penetrano nel follicolo pilifero formando un cono micotico, discendono nella guaina esterna e una volta arrivati all'infundibulo, penetrano nella guaina interna del follicolo e parassitano il pelo alla ricerca della cheratina necessaria al proprio sviluppo. Lo sviluppo miceliale procede verso la radice del pelo e si arresta quando la cheratina si esaurisce e si forma la frangia di Adamson. Successivamente la crescita del pelo trascina la porzione infetta verso l'esterno.

Lo sviluppo di alcune specie (soprattutto *M. canis*) può indurre la produzione di metaboliti del triptofano dotati di fluorescenza se esposti ad alcuni raggi ultravioletti (Chermette et alii, 1993).

Diffusione delle dermatofitosi negli animali.

I dermatofiti sono un gruppo di miceti capaci di invadere i tessuti cheratinizzati; quando patogeni, sono di solito localizzati sullo strato corneo dell'epidermide, degli artigli e dei peli del mantello.

M.canis, in particolare, è un dermatofita zoofilo meglio adattato al gatto: è la più frequente causa di dermatofitosi felina rilevata nel Regno Unito (Sparkes A.H. et alii 1993), in Italia (Iorio R. et alii, 2007), nel Sud degli Stati Uniti d'America (Lewis D.T. et alii, 1991) e in Brasile (Brilhante R.S. et alii, 2003), ma è anche causa molto frequente di dermatofitosi canina ed è una delle principali cause di *tinea capitis* e *corporis* nell'uomo.

L'infezione da *Trichophyton mentagrophytes*, comunemente isolato in cane e gatto, si pensa possa derivare dal contatto con piccoli roditori selvatici; è stata la più comune causa di dermatofitosi riscontrata nei cani da compagnia in India (Ranganathan S. et alii, 1997), e la seconda causa più comune nel Regno Unito. Riveste, invece, un ruolo di minore importanza nel Sud degli Stati Uniti d'America (Lewis D.T. et alii, 1991), in Brasile (Brilhante R.S. et alii, 2003), e in Italia (Mancianti F. et alii, 2002).

Per quanto riguarda *Trichophyton erinacei*, sebbene sia formalmente considerato una variante di *T. mentagrophytes*, molti dei recenti studi tassonomici ne giustificano il riconoscimento come un taxon distinto (Graser Y. et alii, 1999). Questa specie zoofila è comunemente associata al riccio (*Erinaceus europaeus*) (Keimer IF. Et alii, 1991), (Klingmuler G. et alii, 1979), e di conseguenza sono state riscontrate molte infezioni nei cani da caccia dei Paesi in cui il riccio è presente (Graser Y. et alii, 1999).

Epidemiologia

In genere gli animali più giovani sono più predisposti alle dermatofitosi (Sparkes A.H. et alii 1993; Pascoe R.R. et alii, 1979). Questo può riflettere la mancanza dell'immunità specifica acquisita dopo la prima esposizione al micete, ma anche la presenza di un meccanismo immunitario congenito come, ad esempio, la natura e la quantità di lipidi sebacei dell'epidermide (Hay RJ., 1992).

Le infezioni delle specie animali e umane causate da *M.canis* sono spesso dovute al contatto diretto con gatti infetti, ambienti contaminati, o altri mezzi di diffusione della patologia (Cafarchia C. et alii, 2006).

I gatti portatori asintomatici costituiscono una particolare fonte di rischio per l'uomo perchè, non manifestando la patologia, non vengono adottate forme di prevenzione nei confronti del potenziale contagio; in alcuni gatti, invece, l'infezione potrebbe progredire, rendersi evidente, e disseminare così un più abbondante numero di artrospore (Sparkes A. et alii, 1994).

I gatti sono quindi la sostanziale causa di contaminazione ambientale e di veicolo aereo di spore fungine, mentre i cani rivestono, in tal proposito, un ruolo di minore importanza (Mancianti F. et alii, 2003).

Le artrospore di *M.canis* possono rimanere vitali nel terreno per circa diciotto mesi, costituendo un reservoir per nuove o ripetute infezioni (Sparkes A. et alii, 1994).

I piccoli mammiferi selvatici sono un importante reservoir di infezione per i cani, in particolare per quelli da caccia, come i Jack Russell Terriers.

Le patologie associate al *T.mentagrophytes* e al *T. erinacei* dei ricci sono state definite “dermatofitosi selvatiche” (Wright AI., 1980).

Una indagine condotta nel Regno Unito ha riscontrato che i cani di razza Yorkshire Terrier sono maggiormente predisposti alle dermatofitosi provocate da *M.canis* (Sparkes AH., 1993), (Scott DW. et alii, 2001).

Per lo sviluppo di una dermatomicosi è necessaria l'esposizione ad una dose infettiva di spore dermatofitiche. Questa dose varia in base allo stato di salute complessivo del soggetto e all'eventuale presenza di fattori predisponenti quali stress, malnutrizione, malattie debilitanti, stato immunitario compromesso e la giovane età (Scott DW. et alii, 2001).

Segni clinici

Si può sospettare una dermatofitosi se gli animali mostrano lesioni comprendenti una combinazione tra alopecia, eritema, papule, scaglie e croste (Chermette R. et alii, 2008). Questo tipo di lesioni sono localizzate principalmente sulla testa, sul naso e sugli arti anteriori; sono, invece, più raramente rilevate su ventre, fianchi, ascelle, dorso e arti posteriori (Drourot S. et alii, 2008).

Le lesioni tipiche nel cane sono ben definite, con infiammazione attiva alla periferia e, in dipendenza dell'estensione e durata della lesione, una crosta centrale o un alone traslucido di guarigione.

Sono possibili anche lesioni al piatto del naso, ai cuscinetti plantari e agli artigli, ma finora raramente riscontrate.

La dermatofitosi da *M.canis*, si presenta con tipiche aree alopeciche accompagnate da eritema e squame grigiastre o croste che sono solitamente meno infiammate e spesse rispetto a quelle causate da *T.mentagrophytes* e *T.erinacei*. Questi ultimi dermatofiti, infatti, inducono spesso una follicolite e una foruncolosi molto più intensa (Chermette

R. et alii, 2008). L'infezione da *T. mentagrophytes* provoca molto frequentemente delle gravissime desquamazioni, croste e ferite. Spesso si può riscontrare il *kerion*, una forma nodulare ben circoscritta di dermatofitosi caratterizzata da lesioni infiammatorie o suppurative profonde del follicolo pilifero (Chermette R. et alii, 2008) sulle quali possiamo anche riscontrare la formazione di fistole drenanti (Scott DW. et al., 2001).

Uno studio retrospettivo condotto in Nuova Zelanda su cani affetti da dermatofitosi dovuta a *T. erinacei*, ha rilevato la presenza di lesioni sulla parte dorsale della testa che potevano espandersi fino a coinvolgere i padiglioni auricolari e la zona perioculare. In un caso sono state riscontrate lesioni anche su dita, arti e addome. Le lesioni erano caratterizzate da ampie aree alopeciche con cute squamosa. Istologicamente è stata riscontrata acantosi, ipercheratosi epidermica e infundibolare, croste sierocellulari, follicolite (Fairley R.A., 2001).

Diagnosi

Le dermatofitosi di cani e gatti sono malattie della pelle spesso mal diagnosticate: questo rispecchia sia la grande variabilità di manifestazioni cliniche, sia i potenziali errori diagnostici (Scott DW. et alii, 1987).

Molto frequentemente viene posta la diagnosi basandosi unicamente sul riconoscimento visivo di lesioni epiteliali circolari: questo significa che alcuni cani riceveranno una terapia a base di farmaci antimicotici totalmente inutile. Il semplice riscontro di lesioni sulla pelle, come unico criterio nella diagnosi di dermatofitosi, è inattendibile (Scott DW. et al., 2001), (Moriello K.A., 2004).

La contagiosità e la natura zoonotica delle dermatofitosi obbligano i veterinari a mantenere un alto indice di sospetto di questa malattia. Una diagnosi accurata e

precoce è importante a causa della lunghezza, complessità e potenziale tossicità del trattamento richiesto (Robert R. et alii, 2008).

La diagnosi di dermatofitosi viene posta dopo aver provato l'invasione di epidermide e mantello da parte dei dermatofiti. I principali metodi diagnostici sono: l'esame con la lampada di Wood, la microscopia diretta, l'esame colturale e quello biotico dei tessuti interessati da lesioni. Il primo test dovrebbe esser considerato complementare ed effettuato di routine. Può esser utile effettuare un campione biotico in presenza di una lesione insolita e i risultati potrebbero sorprendere il clinico nel caso in cui i sintomi suggeriscano un'altra diagnosi.

Nessuna di queste prove diagnostiche è sempre attendibile: come in medicina umana, per un'ottima sensibilità e specificità, è necessaria una combinazione tra microscopia diretta, lampada di Wood, esame colturale e, se il caso lo necessita, esame istopatologico (Sparkes AH. et alii, 1993).

Microscopia diretta

Si possono ottenere ottimi campioni tramite lo strappamento dei peli o il raschiamento della periferia delle lesioni anulari con un margine di infiammazione attiva, o l'interno della lesione se non è presente una distinzione evidente (Robert R. et alii, 2008).

Artrospore, spore e ife fungine, possono esser riconosciute da un raschiato cutaneo e peli strappati quando vengono posti su un vetrino, con idrossido di potassio (KOH) o paraffina liquida. Questa procedura richiede una notevole abilità e la mancata osservazione di ife o spore non esclude la diagnosi; comunque una diagnosi eseguita tramite microscopia diretta, permette di iniziare rapidamente il trattamento ed effettuare i successivi controlli, senza il ritardo associato all'esecuzione della coltura

fungina. Fra le diagnosi differenziali, soprattutto per quanto riguarda gli animali da compagnia, si deve includere l'infestazione da ectoparassiti come *Demodex spp.*

Alcuni dermatologi veterinari trovano più semplice esaminare gli stessi campioni due volte; la prima osservazione è focalizzata sulla ricerca di parassiti situati fra peli e scaglie epidermiche, mentre la seconda osservazione è focalizzata sulla morfologia del pelo, sulla ricerca di peli spezzati, sfilacciati o con discromie e che hanno perso la normale delimitazione fra cuticola, corteccia e midollo.

Le artrospore ectothrix sono dominanti in medicina veterinaria, sebbene ci siano differenze importanti nelle dimensioni delle spore delle diverse specie (Chermette R. et alii, 2008).

Esame con lampada di Wood

Tra i dermatofiti di importanza veterinaria, solo l'infezione da *M.canis* induce in alcuni casi una fluorescenza color verde mela dei peli infetti del mantello, perciò la diagnosi di dermatofitosi non può essere esclusa se questo esame è negativo e dovranno essere effettuati anche l'esame microscopico e quello colturale (Sparkes AH. et alii, 1993).

I falsi positivi possono esser dovuti alla lucentezza generata dalla presenza di sebo o di un unguento precedentemente applicato (Scott DW. et alii, 2001), (Moriello KA., 2004). Inoltre la necessità di una stanza buia, limita fortemente il diretto utilizzo della lampada per l'esame del mantello degli animali da compagnia, sebbene i peli strappati dal mantello di qualsiasi specie possano essere esaminati in un secondo momento in laboratorio. La fluorescenza è stata osservata in circa il 50% dei casi di dermatofitosi da *M.canis* (Sparkes AH. et alii, 1993).

Questo test di screening immediato e poco costoso è molto utile per riconoscere i peli

parassitati da utilizzare per un successivo esame microscopico e colturale di conferma (Chermette R. et alii, 2008; Sparkes AH. et alii, 1994).

Esame colturale

La coltura fungina è ritenuta la tecnica più sensibile per la diagnosi di dermatofitosi nelle specie veterinarie. L'identificazione permette al clinico di valutare quale dermatofita ha provocato l'infezione ed eventualmente proteggere gli altri animali con cui l'animale infetto possa avere contatto (Chermette R. et alii, 2008; Sparkes AH et alii, 1994).

L'isolamento di un dermatofita da un animale con dei segni clinici compatibili, è fortemente suggestivo di dermatofitosi. È comunque la dimostrazione dell'invasione dei tessuti da parte delle ife fungine tramite microscopio, istopatologia o lampada di Wood, che differenzia definitivamente la vera infezione della pelle, dalla semplice contaminazione del mantello da parte dei dermatofiti. La contaminazione del mantello può essere un'occorrenza comune negli animali a stretto contatto con cani e gatti infetti, in special modo quando presente *M.canis* (Mancianti F. et alii, 2003).

Sabourad agar destrosio reso selettivo con l'aggiunta di cyclohexemide e chloramphenicolo, è il terreno di elezione nella diagnostica di laboratorio delle dermatofitosi. I campioni colturali si possono ottenere da peli strappati da lesioni clinicamente sospette o individuati con la lampada di Wood. Per raccogliere i campioni da analizzare può essere utilizzata una spazzolina sterile (Guillot J. et alii, 2001). Le colture vengono incubate in termostato a 30°C e la presenza di dermatofiti viene valutata macroscopicamente e microscopicamente dopo circa quattordici giorni.

Il genere *Microsporum* presenta sia macro che microconidi su corti conidiofori: i

macroconidi sono ialini e multisetati di aspetto variabile da fusiforme a ovalare con dimensioni comprese tra 7-20 e 30-160 μm , con parete cellulare che può presentarsi sottile o spessa, di aspetto echinulato o verrucoso; la loro forma, dimensione e l'aspetto della parete cellulare sono importanti caratteristiche utilizzate per l'identificazione della specie. I microconidi sono ialini, monocellulari, piriformi o clavati, a parete liscia con dimensioni variabili da 2,5-3,5 a 4-7 μm e non costituiscono un criterio per la discriminazione delle varie specie. La distinzione di questo genere da *Trichopyton*, è essenzialmente basata sulla scabrosità della parete dei macroconidi, sebbene nella pratica sia, a volte, difficile da osservare.

Le colonie di *M.canis* sono piatte allargate, di colore variabile dal bianco al crema, con superficie spessa, cotonosa che può presentare alcune strie radiali. Capovolgendo la piastra, il rovescio della colonia presenta una colorazione variabile dal giallo brillante al giallo bruno, ma si possono riscontrare anche colonie non pigmentate. I macroconidi sono tipicamente affusolati contenenti da cinque a quindici cellette; hanno parete verrucosa e sottile, presentano spesso una protuberanza terminale talvolta leggermente incurvata, simile all'abbozzo di un uncino. Le dimensioni variano da 30-40x6-10 μm . Possono essere presenti pochi microconidi piriformi o clavati.

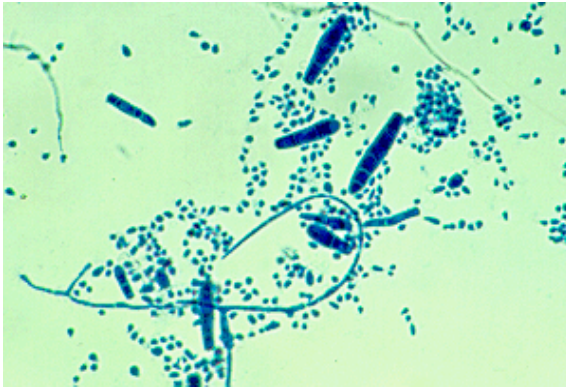


Aspetto microscopico di Microsporum canis

Immagine tratta da www.mycology.adelaide.edu.au

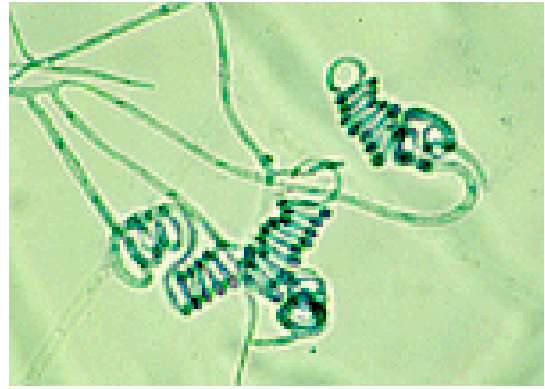
Il genere *Trichophyton* è caratterizzato dallo sviluppo di macro e microconidi entrambi a parete liscia. I macroconidi, assenti in alcune specie, si sviluppano in genere direttamente sull'ifa in posizione laterale o su un breve peduncolo, possono avere parete sottile o spessa, essere clavati o affusolati, di grandezza variabile tra 4-8 e 8-50 μm . I microconidi hanno forma irregolare: possono essere sferici, clavati o piriformi di dimensioni comprese tra 2-3x2-4 μm . La presenza di microconidi distingue questo genere da *Epidermophyton* spp., e la parete liscia dei macroconidi, soprattutto se sessili, li separano da *Microsporum* spp. Sono state riconosciute venti specie. Tra queste, *T. mentagrophytes* presenta colonie piatte di colore variabile dal bianco al crema, con una superficie che va dal polveroso al granulare. Alcune colture possono mostrare delle pieghe centrali o sviluppare una porzione centrale rilevata o un'area pleomorfa simile alla pelle scamosciata di aspetto collinare. La colorazione della colonia sul rovescio della piastra appare solitamente di un colore variabile dal giallo

bruno al rosso bruno. Occasionalmente si possono riscontrare microconidi clavati o piriformi. Potrebbero anche esser presenti ife spirali lisce e macroconidi pluricellulari (Rippon J.W. 1988).



Aspetto microscopico di Trichophyton mentagrophytes

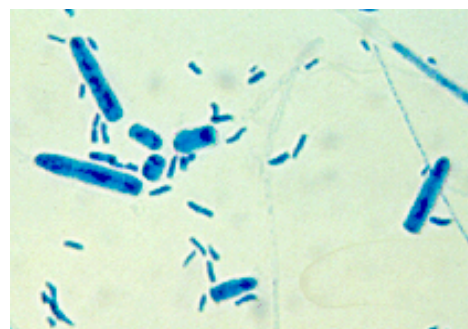
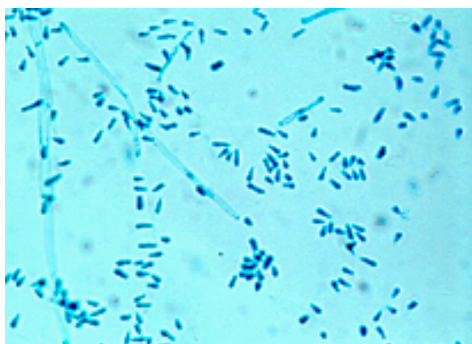
Immagine tratta da
www.mycology.adelaide.edu.au



Ife spirali lisce

Immagine tratta da
www.mycology.adelaide.edu.au

T. erinacei è un fungo filamentoso ialino e settato. Le sue colonie hanno accrescimento rapido, sono di colore bianco, piatte, di aspetto polveroso; a volte si mostrano lanuginose di color giallo limone brillante. Presentano numerosi microconidi clavati sulle ife. I macroconidi sono levigati composti da un numero variabile da due a sei cellule, clavati, potrebbero avere appendici terminali. Sono molto più piccoli rispetto a quelli riscontrati in *T. mentagrophytes*.



Aspetto microscopico di Trichophyton erinacei

Immagini tratte da www.mycology.adelaide.edu.au

Con questo tipo di diagnosi, i problemi possono derivare, per esempio, dalla mancanza di metodo ispettivo giornaliero dei terreni di agar, le variazioni di temperatura nel termostato durante l'incubazione, l'inaccurata identificazione di funghi saprofiti che inducono variazioni di colore rosso nel mezzo, lo scolorimento del mezzo per la crescita di *M.persicolor* e l'errore di identificazione dei miceti isolati durante l'esame microscopico (Guillot J. et alii, 2001).

Esame bioptico

Le caratteristiche istopatologiche delle dermatofitosi veterinarie sono molto variabili. Includono comunemente modelli di dischi nodulari piogranulomatosi con follicoli piliferi infetti, o una dermatite perivascolare superficiale o entrambi i quadri istologici. Una dermatite epidermica e follicolare grave accompagnata da dermatite pustolare acantolitica intraepidermica simile al pemfigo, è stata riscontrata nei cani con dermatofitosi sostenute da *T.mentagrophytes* e *T.erinacei*.

Rari casi di “pseudomicetoma dermatofitico” sono caratterizzati da panniculite piogranulomatosa con aggregati di elementi fungini (Parker WM. Et alii, 1997).

Terapia

La dermatofitosi è una malattia autolimitante nella maggior parte dei casi.

Il trattamento delle forme che non si risolvono spontaneamente prevede il:

- Trattamento topico, per determinare la morte degli agenti infettanti e impedirne la disseminazione nell'ambiente (Enilconazolo, Econazolo, Clorexidina) sotto forma di lozione o shampoo da applicare una o due volte alla settimana (Moriello KA, 2004);
- Trattamento sistemico per ridurre la durata dell'infezione negli animali (Griseofulvina 25-50 mg/kg/12h, Ketoconazolo 15-20mg/kg/12h, Itraconazolo 5-10mg/kg/12h);
- Trattamento ambientale per contribuire a ridurre le recidive dell'infezione o la trasmissione ad altri animali o ai componenti umani del nucleo familiare (Candeggina molto concentrata allo 0,05% o al 5%, Spray ambientali all'enilconazolo) (Corazza et alii, 2007).
- E' stata aneddoticamente riportata l'efficacia dell'antiparassitario Lufenuron, ma non è stata mai dimostrata l'effettiva azione antifungina con studi specifici (Moriello KA, 2004).

Vaccino

L'immunoprofilassi contro le dermatofitosi è stata recentemente oggetto di

rivalutazione. Per quanto riguarda lo sviluppo di un vaccino per cavalli, cani e gatti, a dispetto delle numerose ricerche effettuate a tal proposito, non sono stati effettuati passi in avanti (Lund A et alii, 2008), ma c'è la convinzione che potranno essere presto usati nei protocolli di trattamento (Moriello KA, 2004).

Diffusione delle dermatofitosi nell'uomo.

Includono infezioni della cute e dei suoi annessi, causate da funghi dermatofiti (dermatofitosi) e da funghi non dermatofiti (dermatomicosi).

Le micosi causate da funghi dermatofiti comprendono un complesso di malattie provocate da specie diverse di funghi filamentosi tassonomicamente correlate ai generi *Trichophyton*, *Epidermophyton*, e *Microsporum* che hanno la capacità di invadere la pelle e gli annessi cutanei sia negli animali che nell'uomo.

Sono cheratinofili e cheratolitici e invadono solo lo strato corneo più esterno.

Come per gli animali, i segni clinici e i sintomi delle dermatofitosi variano in base all'agente eziologico, alla reazione immunitaria dell'ospite e al sito di infezione. Queste muffe possono sopravvivere per molto tempo nelle squame cornee e nei capelli, per cui l'infezione può avvenire sia per contatto diretto, che indiretto, tramite materiale infetto. Una condizione igienica scadente o il contatto con animali tignosi, sono i fattori più comuni nell'epidemiologia delle tigne (Mondello F., 2008).

Le varie forme di dermatofitosi sono definite “*tigna*” e sono clinicamente classificate in base al sito anatomico o alla struttura interessata dall'infezione (Mondello F., 2008):

- *tinea capitis* dei capelli, sopracciglia e ciglia; l'infezione riguarda soprattutto i capelli in accrescimento. Le specie fungine coinvolte in questo tipo di infezione sono *Microsporum audouinii*, *Microsporum canis*, *Trichophyton schoenleinii* e *Trichophyton violaceum*. Le infezioni dovute al genere *Microsporum* sono caratterizzate dall'accumulo delle ife miceliali attorno all'orifizio dei follicoli dei capelli estendendosi, poi, all'interno dello spazio follicolare. Questi funghi

si sviluppano nella porzione di capello completamente cheratinizzata e quindi non vitale: il capello continua a crescere nella parte parassitata intrapilare e poi sulla superficie esterna si spezza. Nelle infezioni da *Trichophyton spp.* si riscontrano diverse modalità di invasione: *T. verrucosum* e *T. rubrum* formano artrospore esterne al capello, mentre per *T. violaceum* e *T. tonsurans* le formazioni artrosporee sono all'interno. L'infezione dovuta a *T. schoenleinii* viene definita “tigna favosa”. Questo tipo di infezioni, considerate quasi esclusivamente infantili, sembrano colpire con una certa frequenza anche gli adulti. L'infezione da *Microsporum spp.* si trasmette sia con un contagio interumano, sia con il contatto con animali quali cani e gatti (Caretta G., 2012). Secondo un recente studio svolto in Sardegna su 46 bambini affetti da tinea corporis e tinea capitis, *M.canis* è risultato il principale agente eziologico. L'indagine riguardante la fonte di infezione mostra, nel 91,3% dei casi, un contatto diretto con piccoli animali domestici, soprattutto cani e gatti, in cui l'infezione è di solito asintomatica. Il restante 8,7% dei bambini aveva contratto l'infezione in ambienti scolastici da altri bambini affetti da tigna dovuta a *M.canis*: ciò suggerisce la trasmissione interumana di miceti zoofili (Atzori L. et alii 2012). La *tinea capitis* si manifesta generalmente con una parziale alopecia accompagnata da una reazione infiammatoria della cute interessata dall'infezione.

- *tinea barbae* della barba; prevalentemente di origine animale, è causata da *T. verrucosum*, *T. mentagrophytes*, e *T. erinacei*. Il bestiame e i roditori sono le principali fonti di infezione. I peli della barba e dei baffi sono circondati da

papule e pustole di natura infiammatoria, accompagnate da essudato e croste (Caretta G., 2012). Ne è un esempio il caso clinico di un uomo di trentasette anni in buono stato di salute che per contatto diretto con un riccio, ha sviluppato una *tinea barbae* da *T. erinacei* evoluta in kerion. Per grattamento, ha poi esteso l'infezione provocando lesioni simili anche sulle dita delle mani e, successivamente, l'infezione è stata trasmessa per contatto anche alla moglie. Anche se *T. erinacei*, solo raramente è causa di kerion, questo caso rileva la possibilità di sviluppare una fra le più inconsuete infezioni fungine e mette in evidenza la necessità di identificare rapidamente la fonte di infezione per evitare ulteriori contagi (Sidwell R, U. et alii, 2014).

- *tinea corporis* delle zone glabre della pelle; l'infezione avviene per contagio tra uomo e uomo, animale e uomo, ambiente e uomo e per autocontagio dovuto alla diffusione di materiale patologico infettante da una parte all'altra del corpo tramite grattamento. Nel contagio interumano le lesioni sono localizzate soprattutto alle parti scoperte del corpo; mentre nel contagio dovuto al contatto con animali le lesioni sono generalmente multiple (Caretta G., 2012). Le infezioni della pelle glabra hanno andamento centrifugo attraverso lo strato corneo dell'epidermide: si presentano con eritema e aree di desquamazione che si espandono dal centro, ma con un'area centrale non lesionata (Caretta G., 2012) (Mondello F., 2008).
- *tinea cruris* dell'inguine, eczema marginato di Hebra; le specie responsabili sono *Epidermophyton floccosum*, *T. rubrum* e *T. interdigitale*. La diffusione di questa dermatomicosi può avvenire con lo scambio di indumenti sportivi,

calzature, nonché per le particolari condizioni ambientali delle pieghe corporee che facilitano lo sviluppo della patologia come il solco inguinale, lo spazio compreso tra coscia e scroto o vagina, il cavo ascellare. La *tinea cruris* è molto diffusa nei Paesi caldo-umidi. La zona infetta, generalmente bilaterale e asimmetrica, appare arrossata con superficie cutanea squamosa e prurito più o meno intenso.

- *tinea pedis* del piede (piede d'atleta, dermatofitosi del piede); interessa le dita dei piedi o il piede “in toto”. È causata prevalentemente da *T. rubrum*, *T. interdigitale*, ed *E. floccosum*, che possono essere anche contemporaneamente presenti. L'umidità, il calore e la macerazione della cute, che si creano nelle scarpe, favoriscono la crescita fungina nelle zone di minor spessore della cute dei piedi, come gli spazi interdigitali. Questa tigna si sviluppa prevalentemente in collettività sportive dove si assiste all'insorgenza di episodi epidemici. Si presenta come una dermatite intertriginosa, con macerazione degli spazi interdigitali e prurito.
- *tinea unguium* delle unghie (onicomicosi); è causata prevalentemente da *T. rubrum*, *T. interdigitale*, ed *E. floccosum*, associata in molti casi a tinea manum e tinea pedis, e si ritiene ad esse secondaria. L'infezione può colpire anche una sola unghia e si sviluppa a partire dal recesso sottoungueale e nei sochi laterali dove la cheratina è più molle. Nella prima fase dell'infezione non appaiono alterazioni evidenti, successivamente l'intera lamina ungueale è interessata da opacizzazione ed erosione del margine libero dell'unghia che diventa dentellato (Caretta G., 2012) fino alla distruzione dell'unghia (Mondello F., 2008).

- *tinea manuum*; interessa la regione palmare delle mani, è prevalentemente unilaterale e generalmente associata alla *tinea pedis* da *T. rubrum*. Clinicamente si presenta con ipercheratosi dei palmi e delle dita, e desquamazione (Caretta G., 2012). La recente letteratura ha riportato il caso di una donna svizzera di 27 anni che ha contratto la *tinea manuum* per diretto contatto con un riccio Africano che ha adottato come animale da compagnia. La donna presentava lesioni eritematose anulari alla base della mano destra e al dito indice e medio. La periferia delle lesioni era ispessita con squame sottili ed aree vescicolari e purulente, ma l'unico agente eziologico rilevato è stato *T. erinacei* (Perrier P., et alii, 2013). Casi simili sono stati documentati in Giappone (Mochizuki T. et alii 2005) e in Germania (Weishaupt J. Et alii, 2013) : indagini micologiche hanno dimostrato che l'infezione era stata contratta attraverso il contatto diretto con ricci infetti.

Per quanto riguarda gli agenti zoonosici trattati in questo lavoro si pone una particolare attenzione sul *T. erinacei*: l'infezione umana è abbastanza rara e risulta dal contatto diretto con il riccio. Dalla letteratura mondiale sono stati riportati soltanto pochi casi di *tinea corporis*, *tinea capitis*, e *tinea faciei*, e tutti erano dovuti al contatto diretto con ricci infetti (Schauder S. et alii, 2007), (Rhee DY et alii, 2009). Un solo caso, verificatosi in una donna Caucasica di 26 anni di ritorno da una vacanza in Thailandia, ha riportato come causa di contagio, il contatto con un elefante cavalcato in un parco nazionale. La donna ha negato il contatto con altri animali, ricci in particolare, e di possedere animali da compagnia, come cani o gatti nei quali si può sviluppare questo tipo di infezione (Fairley R.A., 2001). In questo caso, il contagio è avvenuto tramite

contatto con un animale esotico (Borges-Costa J. et alii, 2013).

Poiché il riccio sta diventando un sempre più comune animale domestico, è possibile che si verifichi un incremento del numero di casi di infezioni fungine da *T.erinacei* nei loro proprietari (Sidwell R, U. et alii, 2014).

Parte sperimentale

Finalità del lavoro

Nell'inverno 2006 un cacciatore residente a Coltano, ha sviluppato una forma di *tinea manuum*.

Le forme di *tinea manuum* riconoscono tra i principali agenti eziologici *Terinacei* di cui il riccio (*Erinaceus europaeus italicus*) è considerato il naturale “reservoir”.

In relazione a questo caso, è stato deciso di valutare la presenza di miceti cheratinofili sul mantello di cani da caccia e delle specie cacciate, con particolare riferimento alla lepre (*Lepus europaeus Pallas 1778*), e l'eventuale trasmissione della patologia all'uomo.

Durante il campionamento sui cani, sono state raccolte anche tutte le informazioni che potevano risultare utili ad individuare eventuali fattori di rischio associati alle infezioni fungine come ad esempio la razza, il sesso, l'età, lo stile di vita dell'animale, la presenza di patologie, l'attuazione di eventuali terapie e l'uso di antiparassitari.

In oltre è stata studiata la presenza di dermatofiti, *Terinacei* in particolare, su ricci per poterne valutare il ruolo epidemiologico nella diffusione delle zoonosi.

Materiali e metodi

La ricerca è stata condotta nel periodo giugno 2006-giugno 2014, in collaborazione con l'associazione Federcaccia, sezioni di Capannoli e Santa Maria a Monte, e il Centro Regionale Recupero Fauna Selvatica di Prato grazie al quale è stato possibile reperire ulteriori ricci da poter campionare.

In situazioni climatiche normali, la maggior parte dei ricci va in letargo dalla metà di novembre, fino alla metà di marzo, periodo nel quale non sono stati raccolti campioni.

I prelievi sono stati effettuati sia su ricci vivi, in collaborazione con il Centro Regionale Recupero Fauna Selvatica di Prato, sia su cadaveri individuati ai lati delle strade della Provincia.

I campioni prelevati da cani da caccia sono stati raccolti in occasione di:

- gare cinofile, svoltesi nei Comuni di Santa Maria a Monte, Capannoli e Lajatico;
- allenamenti per cani da caccia tenuti nei quagliodromi di Capannoli e Montecalvoli;
- catture di lepri a scopo di censimento e ripopolamento del territorio, svoltesi nei Comuni di Soiana, Terricciola e Ceppaiano, organizzate dalle suddette associazioni.

Per ampliare il campione da analizzare sono stati contattati alcuni ambulatori della zona per avere campioni di cani da caccia con presenza di lesioni ascrivibili a dermatofitosi.

Sono stati analizzati cani da caccia con attitudine venatoria da penna e da pelo che

potevano riportare, o meno, segni di sintomatologia clinica riferibile a dermatofitosi, sottoponendoli a spazzolatura secondo la tecnica di McKenzie (1963) per la raccolta di campioni di peli ed eventuali squame cutanee da destinare ad indagine micologica.

Questa operazione è stata preceduta dalla raccolta dei principali dati riguardanti segnalamento del soggetto, anamnesi di patologie presenti al momento del prelievo, con particolare attenzione al riscontro di lesioni dermatologiche attribuibili alla presenza di dermatofiti ed eventuali trasmissioni di micosi al proprietario o membri della famiglia. In oltre sono stati raccolti dati riguardanti l'utilizzo di antiparassitari.

I dati sono stati trascritti su un apposito modulo riportato alla pagina seguente.

Soggetto _____

Proprietario _____

Residenza _____

Età _____

Sesso M F

Promiscuità con altri animali _____

Dove vive l'animale _____

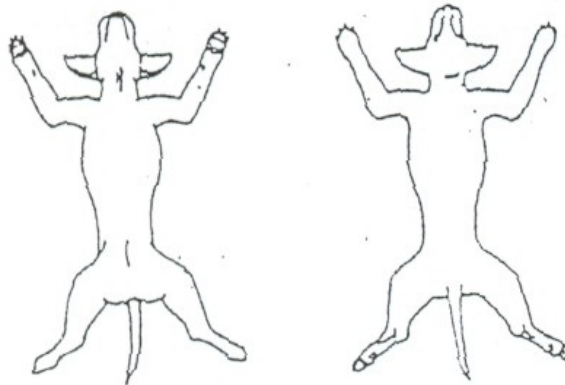
Attitudine venatoria _____

Zona di caccia _____

Presenza di lesioni _____

Localizzazione lesioni

Descrizione delle lesioni _____



Data di insorgenza _____

Eventuali recidive _____

Utilizzo di antiparassitari _____

Presenza di lesioni in persone venute in contatto con l'animale _____

La scheda è stata identificata con un numero progressivo, che veniva poi riportato sul campione, per poterne mantenere la tracciabilità.

Sono stati prelevati campioni da lepri in occasione di battute di caccia, tra ottobre e dicembre, e durante le catture effettuate a scopo di censimento della popolazione e ripopolamento svolte nei mesi di gennaio e febbraio.

Secondo la legislazione italiana, l'amministrazione regionale Toscana ha predisposto la creazione di aree di ripopolamento e cattura in ogni provincia per gestire l'attività venatoria sul territorio. In queste aree protette le lepri vengono catturate, censite e destinate a zone con minore densità di popolazione (Nardoni S. et alii, 2010).

Il territorio dove effettuare le catture viene delimitato da reti a tramaglio: la distanza tra queste ed il fronte di inizio della battuta non deve superare i 500m circa, poiché difficilmente le lepri scovate nella fase iniziale possono essere indirizzate alle reti oltre tale distanza.



Posizionamento rete

Per la riuscita delle operazioni di ripopolamento è molto importante che le lepri vengano estratte dalle reti e manipolate con cura per limitare lo stress indotto dalla cattura ed evitare loro possibili traumatismi. E' di fondamentale importanza che, durante la presa, la colonna vertebrale non assuma mai una posizione di iperestensione (posizione orizzontale, con presa ad arti posteriori ed orecchie) in quanto un eventuale “colpo di reni” potrebbe produrre gravi lesioni; pertanto la presa corretta prevede una posizione obliqua, con la testa più bassa rispetto al bacino.

Appena liberate dalla rete, le lepri sono sistemate in apposite cassette di legno (Spagnesi M., et alii 1992).

Al termine della cattura le lepri vengono censite apponendo, se non presente, una marca auricolare numerata fornita dalla Provincia e, successivamente, sottoposte a prelievo ematico per le indagini sierologiche e prelievo di campioni di pelo per le indagini micologiche.



Applicazione marca auricolare

Alcuni campioni da lepre sono stati raccolti, grazie al contributo di alcuni cacciatori, anche durante la stagione di caccia.

Sono state effettuate indagini micologiche su 44 ricci, 193 cani da caccia e 73 lepri.

Il campionamento è stato eseguito secondo il metodo di McKenzie che prevede la raccolta del materiale da esaminare usando una spazzola sterile. Questo metodo può essere usato sia per raccogliere campioni da lesioni visibili, sia, come in questo caso, quando si ha necessità di campionare il pelo in assenza di lesioni. Il metodo si basa sull'adesione di particelle cutanee e peli ai denti della spazzolina, in virtù delle forze elettrostatiche provocate dalla dinamica dell'operazione (McKenzie, 1963).

Ogni cane campionato è stato sottoposto a spazzolatura per circa tre minuti su testa, ventre ed arti; le lepri sono state spazzolate su ventre ed i ricci su ventre e dorso. Le spazzole, di circa 8cm di diametro, dotate di manicotto per evitare l'inquinamento da parte dell'operatore, erano sterili e confezionate in un involucro di plastica.

Dopo il prelievo sono state riposte nel proprio involucro, etichettate con il numero progressivo di riconoscimento, conservate a temperatura ambiente e portate in laboratorio per le indagini micologiche entro una settimana dal prelievo.

I campioni sono stati seminati per infissione delle spazzole su piastre di Petri contenenti terreno colturale.

Sul coperchio di ogni piastra è stato riportato il numero assegnato alla spazzolina corrispondente e la data di semina. Successivamente le piastre sono state inserite capovolte in termostato e incubate per circa 10 giorni a 25°C.

È stato utilizzato il terreno *Mycobiotic agar*® (*Difco Laboratories, Detroit, USA*) : questo tipo di terreno, costituito da Sabouraud destrosio, permette l'isolamento

primario di dermatofiti. Il mezzo è reso selettivo dall'aggiunta di Cloramfenicolo che inibisce la crescita batterica, e di Cicloeximide che impedisce lo sviluppo di funghi saprofiti (Tampieri, 2004).

Come test diagnostico è stato scelto l'esame colturale perché, in base all'identificazione dei miceti isolati, assicura la risposta eziologica precisa.

L'esame macroscopico è stato condotto tramite ispezione delle colonie su entrambi i lati della piastra: forma, dimensione, colore sono state le principali caratteristiche esaminate.

L'esame microscopico è stato effettuato tramite la tecnica dello “*scotch test*”. Sulla colonia da esaminare viene appoggiata una piccola striscia di nastro adesivo trasparente che viene successivamente posta sul vetrino portaoggetti per l'identificazione. Questo metodo molto pratico e di rapida esecuzione trova dei limiti di applicazione sui dermatofiti con micelio aereo poco sviluppato.

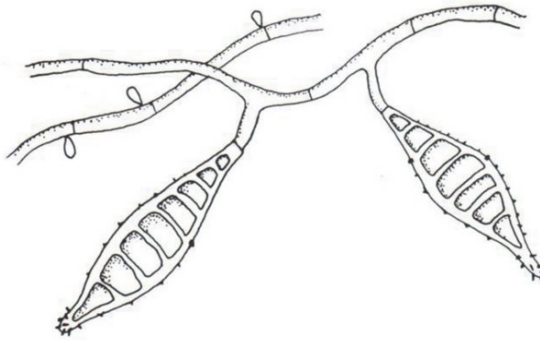
Per l'identificazione sono stati utilizzati ingrandimenti compresi tra 50 e 400X.

I caratteri microscopici utilizzati per il riconoscimento della specie fungina riguardano la morfologia delle strutture vegetative, le ife, e delle strutture riproduttive, le spore.

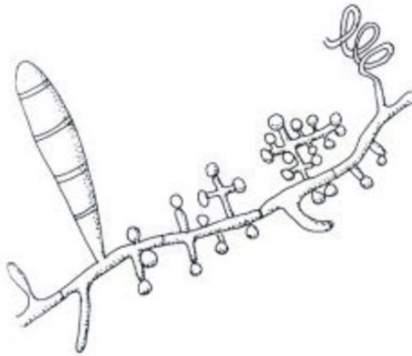
I generi *Microsporum* e *Trichophyton*, appartenenti ai dermatofiti, presentano delle caratteristiche microscopiche comuni già descritte nello specifico nella parte generale.

Il riconoscimento della specie è quindi basato sull'analisi differenziale di macro e microconidi, sulla loro presenza, numero e distribuzione lungo le ife.

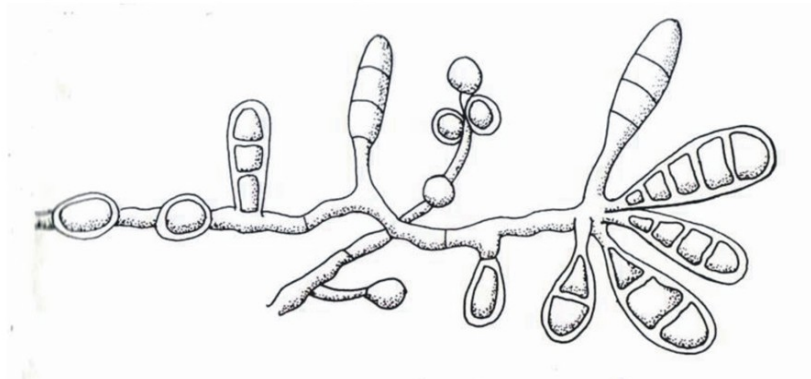
Microsporium canis



Trichophyton mentagrophytes



Trichophyton erinacei



Risultati

Per quanto riguarda l'isolamento di dermatofiti dagli animali campionati, l'unica specie isolata da tutti è ascrivibile a *T. terrestre*, presente sempre in quantità esigue ($\leq 5\text{CFU}$), ad indicare una contaminazione dal terreno, piuttosto che una vera colonizzazione.

I risultati ottenuti sono stati distinti in base alle specie isolate e, successivamente secondo i miceti cheratinofili riscontrati.

Ricci

Tabella 1 – Miceti isolati da ricci		
Miceti isolati su ricci	Isolamenti (nr)	Prevalenza (%)
<i>Alternaria</i> sp	4	9,1
<i>Scopulariopsis</i> sp	4	9,1
<i>Cladosporium</i> sp	4	9,1
<i>T. terrestre</i>	2	4,5
<i>Candida lipolytica</i>	1	2,3
<i>T. terrestre</i> – <i>Scopulariopsis</i>	1	2,3
<i>T. terrestre</i> – <i>Alternaria</i>	1	2,3
<i>Alternaria</i> – <i>Cladosporium</i>	1	2,3
NEGATIVO	26	59

Dei 44 ricci esaminati, 18 campioni sono risultati positivi per la ricerca di miceti, individuando 5 specie diverse: *Alternaria*, *Scopulariopsis*, *Cladosporium*, *Trichophyton* e *Candida*.

I generi riscontrati con la prevalenza maggiore, sono stati *Alternaria*, *Scopulariopsis* e *Cladosporium*, specie saprofite di scarso rilievo.

Il genere *Trichophyton* è stato individuato da solo su 2 campioni, e in associazione

con *Scopulariopsis sp.* ed *Alternaria sp.* su altri due campioni.

Tabella 2 – Dermatofiti isolati da ricci		
Miceti isolati su ricci	Isolamenti (nr)	Prevalenza (%)
T. terrestre	2	4,5
T. terrestre – Scopulariopsis	1	2,3
T. terrestre – Alternaria	1	2,3
Totale positivi	4	9,1
Totale negativi	40	90,9

E' stato possibile isolare dermatofiti solo da 4 campioni (9,1%).

Ciò che emerge dal prospetto è la totale assenza di *T.erinacei*, di cui il riccio è ritenuto essere il principale reservoir e la grande quantità di campioni negativi (90,9%).

Cani

Sono stati esaminati soltanto i cani da caccia provenienti da gare cinofile, allenamenti per cani da caccia tenuti nei quagliodromi e catture di lepri a scopo di censimento e ripopolamento del territorio. Dagli ambulatori non sono pervenute segnalazioni di cani da caccia con evidenti segni clinici di dermatofitosi.

Tabella 4 – Miceti isolati da cani (193 esaminati)		
Miceti isolati da cani	Isolamenti (nr)	Prevalenza (%)
Alternaria	41	21,2
Alternaria – Cladosporium	31	16,1
Cladosporium	13	6,8
T. terrestre	8	4,3
Scopulariopsis	6	3,1
Ch. keratinophylum	3	1,5
Scopulariopsis – Alternaria	2	1
Penicillium	1	0,5
T. erinacei	1	0,5
Scopulariopsis – T. ajelloi	1	0,5
T. terrestre – Scopulariopsis	1	0,5
T. terrestre – Alternaria	1	0,5
Cladosporium - T. terrestre	1	0,5
Alternaria - Cladosporium - Scopulariopsis	1	0,5
TOTALE ISOLAMENTI	111	57,5
NEGATIVO	82	42,5

Dei 193 cani da caccia esaminati, 82 campioni (42,5%) sono risultati negativi mentre su 111 (57,5%) è stato possibile isolare 6 specie di miceti: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Scopulariopsis*, *Chrysosporium*, *Penicillium* e *Trichophyton*.

Come nel caso dei miceti rilevati da ricci, le specie con la prevalenza maggiore di isolamenti, non riguardano specie cheratinofile, ma funghi ambientali.

Tabella 5 – Prevalenza di miceti cheratinofili isolati da cani		
Miceti isolati da cani	Isolamenti (nr)	Prevalenza (%)
T. terrestre	8	4,2
Ch. keratinophylum	3	1,6
T. erinacei	1	0,5
Scopulariopsis – T. ajelloi	1	0,5
T. terrestre – Scopulariopsis	1	0,5
T. terrestre – Alternaria	1	0,5
Cladosporium - T. terrestre	1	0,5
TOTALE POSITIVI	16	8,3
TOTALE NEGATIVI	177	91,7

Solo su 16 campioni (8,3%) è stato possibile riscontrare la presenza di *Trichophyton sp.*, e *Chrysosporium sp.*. Le colonie erano presenti in piccolissime quantità (<5CFU) e pertanto i campioni sono ritenuti scarsamente significativi.

Il dato rilevante è costituito dalla massiccia presenza di campioni negativi (91,7%).

Risultati raccolti attraverso la scheda identificativa

Attraverso i dati raccolti tramite la scheda identificativa, compilata per ogni soggetto è emerso che i 193 campioni esaminati erano composti da 109 maschi (56,5%) e 84 femmine (43,5%).

Per quanto riguarda l'età, 14 avevano meno di un anno (7,3%), 124 un'età compresa tra 1 e 5 anni (64,2%) e 55 più di 5 anni (28,5%).

Sono state individuate 7 razze: 8 cani di razza Bracco (4,1%), 25 Breton (13%), 12 Pointer (6,3%), 46 Segugio (23,8%), 65 Setter (33,7%), 30 Springer (15,5%) e 7 meticci (3,6%).

I cani presentavano attitudine venatoria per pelo in 61 casi (31,6%) e per penna in 132

casi (68,4%).

Trentacinque soggetti su 193 (18,13%) non hanno contatti con altri animali, mentre i rimanenti 158 (81,86%), possono venire in contatto con gatti, animali da cortile o altri cani.

Si può sicuramente affermare che tutti i cani campionati non presentavano evidenti lesioni attribuibili ad una dermatofitosi, tranne tre casi in cui erano evidenti aree di desquamazione della cute dovuta, però a Leishmaniosi.

In particolare due di questi casi sono risultati negativi , mentre in uno è stata riscontrata la presenza di *T. erinacei*.

E' certamente da mettere in luce il fatto che tutti i cani sono sottoposti a trattamenti antiparassitari: 127 cani (65,8%) sono trattati con antiparassitari spot-on a base di Fipronil, 48 (24,87%) con antiparassitario spot-on a base di Imidacloprid e Permetrina, 8 cani (4,14%) con collare a rilascio di Deltametrina e 10 (5,18%) con l'associazione di collare e spot-on a base di Fipronil.

Tutti i proprietari hanno inoltre dichiarato che i loro cani non sono mai stati affetti da dermatofitosi, nè di esser stati loro stessi, o altro membro della famiglia, oggetto di contagio.

Lepri

Tabella 10 – Miceti isolati da lepri (73 esaminati)		
Miceti isolati su lepri	Isolamenti (nr)	Prevalenza (%)
Cladosporium	7	9,6
Alternaria	4	5,5
Scopulariopsis	4	5,5
T. terrestre	2	2,7
Alternaria - Cladosporium	2	2,7
Ch. keratinophylum	1	1,4
Ch. tropicum	1	1,4
Chrysosporium inops	1	1,4
TOTALE ISOLAMENTI	22	30,1
NEGATIVO	51	69,86

Dei 73 campioni analizzati, 51 (69,86%) sono risultati negativi, mentre su 22 campioni è stato possibile isolare 5 generi di miceti diversi: *Cladosporium*, *Alternaria*, *Scopulariopsis*, *Trichophyton* e *Chrysosporium*.

Tabella 11 – Prevalenza di miceti cheratinofili isolati da lepri		
Miceti isolati da lepri	Isolamenti (nr)	Prevalenza (%)
T. terrestre	2	2,7
Ch. keratinophylum	1	1,4
Ch. tropicum	1	1,4
Chrysosporium inops	1	1,4
TOTALE POSITIVI	5	6,8
TOTALE NEGATIVI	68	93,2

Come mostrato in tabella 11 per quanto riguarda la ricerca di miceti cheratinofili, sono stati individuati soltanto 5 campioni positivi (6,8%) su 73.

Anche in questo caso i cheratinofili isolati erano in piccole quantità, <5 CFU indicando più una contaminazione invece di vere e proprie colonizzazioni.

Discussione e conclusioni.

Ricci

Durante il periodo di studio, sono stati esaminati 44 campioni raccolti da ricci selvatici che non mostravano segni di dermatofitosi.

Dall'analisi micologica per la ricerca di miceti cheratinofili, è stato possibile riscontrare soltanto in 4 ricci la presenza di *T.terrestre* , ma in quantità così trascurabili da indicare una contaminazione casuale.

Oltre all'elevata percentuale di campioni negativi riscontrati (90,9%), è da sottolineare la totale assenza di *T.erinacei* di cui i ricci sono i naturali *reservoir*.

Quest'ultimo risultato particolare ed inaspettato, è in linea solo con i dati rilevati in un studio condotto in Spagna nel 2012: su 91 campioni che non presentavano segni clinici riconducibili a dermatofitosi, non è stata riscontrata la presenza di *T.erinacei* e più in generale la presenza di dermatofiti (Molina-Lopez et al., 2012).

In tale studio i generi prevalentemente riscontrati sono stati *Cladosporium* (79,1%), *Penicillium* (74,7%), *Alternaria* (64,8%) e *Rhizopus* (63,7%): queste specie saprofite sono frequentemente riscontrate nell'ambiente, sul suolo o sulle piante (Mantovani A. et alii, 1982), (Aho R., 1983) e la loro presenza può essere considerata come un indicatore di contaminazione transitoria della cute e dei suoi annessi (Aho R., 1983). Secondo gli Autori, l'alta prevalenza di contaminanti riscontrata, potrebbe aver interferito con la crescita di altre specie patogene come i dermatofiti (Molina-Lòpez R.A. Et alii 2012), evenienza che comunque non si è verificata nel nostro caso.

Questi generi sono considerati ubiquitari, pertanto il potenziale ruolo del riccio come portatore o reservoir è considerato trascurabile.

I risultati ottenuti in questa indagine e nello studio spagnolo risultano in contrasto con altri studi culturali svolti, secondo i quali il 44,7% dei ricci selvatici stanziati in Nuova Zelanda (Smith JMB et alii, 1963) e il 38,9% dei ricci adottati come animali da compagnia in Giappone (Takahashi Y et alii 2003), sono contaminati da *T.erinacei*. Secondo Morris & English la grande frequenza di *T.erinacei* riscontrata in Nuova Zelanda è da imputare alla più alta densità di ricci presenti su questo territorio, rispetto a quella rilevata in U.K. (Morris P et alii, 1969). Gli stessi autori hanno inoltre rilevato una maggiore prevalenza del micete nei maschi adulti rispetto a quanto riscontrato nelle femmine e negli animali giovani, e una maggiore prevalenza nei ricci provenienti da un habitat urbano (17%), rispetto a quello rurale (9%). E' da notare che le prevalenze più alte sono state riscontrate soltanto negli studi risalenti agli anni '60.

Presumibilmente la distribuzione di *T.erinacei* è coesistente con quella dei ricci, e l'infezione nell'uomo può verificarsi dovunque in vicinanza di questo animale, sia esso selvatico o domestico, ma come riportato nel caso di infezione umana da *T.erinacei* dopo il contatto con un'elefante in Thailandia (Borges-Costa J. et alii, 2013), si può pensare che questo tipo di micete possa esser presente, oltre che su ricci, anche su altri tipi di mammiferi selvatici. Per tanto, potrebbe esser utile compiere nuove ricerche per valutare meglio i dati epidemiologici riguardanti questo micete.

Cani

Per quanto concerne la parte di studio relativo ai cani ad attitudine venatoria, sono stati esaminati 193 campioni dei quali solo 16 (8,3%) sono risultati positivi per ricerca di miceti cheratinofili. Dato rilevante è la mancanza di segnalazioni di soggetti con sintomatologia ascrivibile a dermatofitosi, anche da parte dei liberi professionisti, indicando un'assenza/trascurabile presenza di casi clinici sul territorio.

Difatti, tutti i cani esaminati erano privi di lesioni dermatologiche riconducibili a dermatofitosi.

Il confronto dei presenti dati con quanto riscontrato in letteratura nazionale può essere effettuato esclusivamente con uno studio svolto a Bari (Cafarchia et alii, 2006) che ha evidenziato come cani asintomatici possano comunque essere portatori di dermatofiti. Infatti nei 28 casi positivi sui 136 esaminati, è stata riscontrata una prevalenza del 8,8% di *T.terrestre*, del 5,9% di *M.canis*, e del 7,4% di *M.gypseum*. dato che altre indagini riguardano studi epidemiologici condotti su animali sintomatici.

Uno studio condotto a Pisa nel periodo 1986-2000 ha rilevato su 3028 cani esaminati il 15,5% di *M.canis*, il 2,2% di *M.gypseum* e l'1% di *T.mentagrophytes* (Mancianti F. et alii, 2002). Tali soggetti appartenevano a diverse razze con diverse attitudini. In un successivo analogo studio (Nardoni et al., 2013) la prevalenza dei dermatofiti cominciava a presentare un lieve decremento.

La totale assenza di segnalazioni di casi di tigna da parte di ambulatori della zona, è in disaccordo con i dati riportati nella tesi svolta nell'Anno Accademico 1989/1990 dal Dott. Marioni, con 127 isolamenti di dermatofiti e funghi cheratinofili su 178 cani esaminati (71,3%). Come per lo studio precedente, anche in questo caso il micete

maggiormente isolato è stato *M.canis* (12,4%), seguito da *M. gypseum* (1,7%), *T.mentagrophytes* (1,1%) e *T.terrestre* (0,56%).

E' stato inoltre riportato che la crescita contemporanea di numerose colonie sulla stessa piastra ha reso complicato il riconoscimento delle varie specie, tanto da richiedere l'allestimento di subcolture, per selezionare colonie non inquinate, indicando una situazione estremamente diversa da quella da noi rilevata, con una scarsa quantità di colonie isolate dai soggetti positivi tanto da far pensare ad una contaminazione dall'ambiente.

I dati riguardanti gli studi elencati, sono comunque ottenuti dall'analisi di campioni prelevati da cani che presentavano segni di dermatofitosi al momento del prelievo. E' pertanto plausibile che i generi di miceti isolati e le loro prevalenze, divergano da ciò che è stato riscontrato in questo studio, ma la differenza ottenuta è così marcata da essere estremamente significativa, soprattutto in cani ad attitudine venatoria, a stretto contatto con la natura ed animali selvatici.

Un dato non pubblicato, ma ormai evidente nell'attività diagnostica condotta in particolar modo sulle specie animali viventi allo stato libero in Toscana, ha evidenziato la progressiva riduzione, fino alla scomparsa di *M. canis*, dermatofita considerato a tutti gli effetti fino a qualche tempo fa di comune riscontro (Nardoni e Mancianti, comunicazione personale).

Dai dati raccolti attraverso la scheda identificativa, si evince come tutti i cani esaminati siano sottoposti a regolari visite mediche e a trattamento antiparassitario, denotando una forte sensibilità dei proprietari nei confronti della salute del proprio animale.

I trattamenti antiparassitari sono regolarmente effettuati attraverso la somministrazione

di soluzioni spot-on il cui principio attivo è Fipronil (65,80%), soluzioni spot-on con Imidacloprid associato a Permetrina (24,87%) per principio attivo, l'applicazione di un collare a rilascio di Deltametrina (5,18%) e l'associazione di collare e soluzione spot-on (Deltametrina e Fipronil) (4,14%).

Nel 2011 è stato effettuato uno studio per valutare in vitro gli effetti di diverse concentrazioni di fipronil, permethrin, imidacloprid, NeemAzal e amitraz sulla germinazione, crescita vegetativa e sporulazione di un fungo entomopatogeno: *Metarhizium anisopliae*. In particolare Fipronil è in grado di favorire un debole decremento nella germinazione, crescita vegetativa e sporulazione, ma con effetto tossico per l'ospite anche a basso dosaggio. L'associazione imidacloprid e permetrina ha riscontrato una inibizione del 20% sul numero di colonie formate (Schumacher V. et alii 2011). Il dosaggio dei principi attivi è espresso in parti per milione (ppm), per tanto se una dose infinitesimale di prodotto riesce a rallentare la crescita di un micete in vitro, è presumibile che il dosaggio delle suddette sostanze nelle lozioni antiparassitarie, possa essere in grado di ostacolare la crescita di miceti sulla pelle.

L'azione inibitoria del Fipronil nei confronti della chitina è già nota, ma naturalmente sarebbe opportuno condurre ulteriori indagini per verificarne l'effettiva azione antimicotica.

In questo caso il ruolo epidemiologico del cane nella diffusione delle dermatofitosi risulta trascurabile.

Lepri

Sono stati valutati 73 campioni prelevati da lepri, apparentemente sane, dei quali 68 sono risultati negativi (93,2%) e 5 (6,8%) positivi.

Anche in questo caso, la positività per miceti cheratinofili dei generi *Trichophyton* e *Chrysosporium* è da considerarsi come contaminazione, essendo dovuta alla presenza di un esiguo numero di colonizzazioni (<5CFU).

In uno studio simile condotto a Pisa dal 2003 al 2008 (Nardoni S. et alii, 2010), il 7,5% delle lepri esaminate è risultata portatrice di dermatofiti e funghi cheratinofili.

I miceti prevalentemente riscontrati sono stati: *T.terrestre* (2,1%), *Chrysosporium* sp, *Ch.keratinophylum*, *M.gypseum*, *T.gloriae* e *T.mentagrophytes* (0.6% ognuno), *M.canis* (0,1%) e altri miceti in associazione. Dall'esame in dettaglio dei dati riferiti dagli Autori comunque, le maggiori prevalenze di dermatofiti e soprattutto di *M.canis* isolati erano riportate nei primi anni di osservazione.

Uno studio effettuato in Piemonte (Gallo MG, et alii, 2005) sui silvilaghi ha rilevato, sui casi positivi, il 24% di colonie dermatofitiche che includevano sia specie geofile che zoofile riscontrandone la maggiore prevalenza tra maggio e settembre.

Conclusioni

In conclusione dalla presente tesi sono emersi alcuni dati interessanti, quanto inaspettati che possono essere così riassunti:

- Assenza di dermatofiti zoofili nel campione esaminato;
- Assenza di *Terinacei* in quello che normalmente è indicato come il serbatoio biologico di tale specie fungina;
- Ridotta varietà e quantità di miceti isolati

che ci inducono ad ipotizzare un cambiamento nell'epidemiologia delle dermatofitosi animali, nel tipo di campione oggetto del presente lavoro.

Sono quindi necessari ulteriori studi su un campione numericamente più consistente, volti ad approfondire la portata di tali variazioni, anche in relazione alla possibile correlazione con trattamenti antiparassitari.

Bibliografia

1. Aho R. "Saprophytic fungi isolated from the hair of domestic and laboratory animals with suspected dermatophytosis", *Mycopathologia*, vol 83, no.2, pp 63-67, 1983.
2. Ajello L, Cheng SL. The perfect state of *Trichophyton mentagrophytes*. *Sabouraudia* 1967;5:230-4.
3. Atzori L., Aste N., Aste N., and Pau M. Tinea faciei due to *Microsporum canis* in children: a survey of 46 cases in district of Cagliari (Italy). *Pediatric dermatology* Vol 29 No4 409-413, 2012.
4. Brilhante RS, Cavalcante CS, Soares-Junior FA, Cordeiro RA, Sidrim JJ, Rocha MF. High rate of *Microsporum canis* feline and canine dermatophytoses in Northeast Brazil: epidemiological and diagnostic features. *Mycopathologia* 2003;156:303-8.
5. Brilhante RS, Cordeiro RA, Gomes JM, Sidrim JJ, Rocha MF. Canine dermatophytosis caused by an antropophilic species: molecular and phenotypical characterization of *Trichophyton tonsurans*. *J Med Microbiol* 2006; 55:1583-6.
6. Borges-Costa J., Martins M.L. *Trichophyton erinacei* skin infection after recreational exposure to an elephant in Southeast Asia. *Pathogens and Global Health*, 2013.
7. Caretta G.; *Micologia medica*, CEA Selecta Medica, 2012.
8. Cafarchia C, Romito D, Capelli G, Guillot J, Otranto D. Isolation of *Microsporum canis* from the air coat of pet dogs and cats belonging to owners diagnosed with *M.canis* tinea corporis. *Vet Dermatol* 2006;17:327-31.
9. Chermette R, Ferreiro L, Guillot J. Dermatophytoses in animals. *Mycopathologia* 2008;166:385-405.
10. Corazza M., Sgorbini M. *Argomenti di patologia e clinica degli animali d'affezione*. Servizio Editoriale Universitario di Pisa, 2007.
11. De Hogg GS, Guarro J, Genè J, Figueras MJ. *Trichophyton mentagrophytes* (Robin) Blancard. In: De Hoog GS, Guarro J, Genè J, Figueras MJ, eds. *Atlas of Clinical Fungi*. Utrecht, The Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 1995:111-2.
12. Drourot S, Mignon B, Fratti M, Roosje P, Monod M. Pets as the main source of

- two zoonotic species of the *Trichophyton mentagrophytes* complex in Switzerland, *Arthroderma vanbreuseghemii* and *Arthroderma benhamiae*. Journal compilation 2008;20:13-18.
13. English MP, Smith JMB, Ruth-Munro FM. Hedgehog ringworm in the north island of New Zeland. *NZ Med J* 1964; 63:40-42.
 14. English MP, Morris P. *Trichophyton mentagrophytes* var.*erinacei* in hedgehog nests. *Sabouraudia* 1967; 7:118-121.
 15. Fairley R.A. Case report. The istological lesions of *Trichophyton mentagrophytes* var *erinacei* infection n dogs. *Veterinary Dermatology* 2001, 12, 119-122.
 16. Foil CS: Dermatophytosis, in Greene CE (ed): Infectious diseases of the dog and cat (ed 2). Philadelphia PA, W. B. Saunders Company, 1998, pp 362-370.
 17. Graser Y, Kuijpers AF, Presber W, De Hoog GS. Molecular taxonomy of *Trichophyton mentagrophytes* and *T. tonsurans*. *Med Mycol* 1999.
 18. Guillot J, Latie L, Deville M, Halos L, Chermette R. EvAjellalualuation of the dermatophyte test medium RapidVet-D. *Vet Dermatol* 2001;12:123-7.
 19. Hay RJ. Fungi and fungal infections of the skin. In: Noble WC, editor. The skin microflora and microbial skin disease. Cambridge: Cambridge University Press; 1992. p.232-63.
 20. Iorio R, Cefarchia C, Capelli G, Fasciocco D, Otranto D, Giangaspero A. Dermatophytoses in cats and humans in central Italy: epidemiological aspect. *Mycoses* 2007;50:491-5.
 21. Keimar IF, Gibson EA, Reynolds DJ. Zoonoses and other findings in hedgehog (*Erinaceus eruropaeus*); a survey of mortality and reviev of the literature. *Vet Rec* 1991; 128:245-9.
 22. Klingmuler G, Heymer T, Sobich E. *Trichophyton mentagrophytes* var.*erinacei* infection contracted from a hedgehog. *Hautzart* 1979; 30: 140-3.
 23. Lewis DT, Foil CS, Hosgood G. Epidemiology and clinical features of dermatophytosis in dogs and cats at Louisiana State University: 1981-1990. *Vet Dermatol* 1991;2:53-8.
 24. Lund A, Deboer DJ. Immunoprophylaxis of dermatophytosis in animals. *Mycopathologia* 2008;166:407-24.
 25. Mackenzie, D.W.R. Hairbrush diagnosis in detection and eradication of non-flourescent scalp ringworm. *Med. J.*, 2, 363-365, 1963.

26. Mancianti F, Nardoni S, Cecchi S, Corazza M, Taccini F. Dermatophytes isolated from symptomatic dogs and cats in Tuscany, Italy during a 15-year-period. *Mycopathologia* 2002;156:13-8.
27. Mancianti F, Nardoni S, Corazza M, D'Achille P, Ponticelli C. Environmental detection of *Microsporum canis* arthrospores in the households of infected cats and dogs. *J Feline Med Surg* 2003;5:323-8.
28. Mantovani A., Morganti L., Battelli G. et al., "The role of wild animals in the ecology of dermatophytes and related fungi", *Folia Parasitologica*, vol. 29, no.3, pp.279-284, 1982.
29. Marioni C. Le dermatomicosi del cane in provincia di Grosseto. Anno Accademico 1989/1990.
30. Marples MJ, Smith JM. The hedgehog as a source of human ringworm. *Nature* 1960; 188:867-8.
31. Mochizuki T., Takeda K., Nakagawa M., Kawasaki M., Tanabe H., Ishizaki H. The first isolation in Japan of *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei* causing tinea manuum. *International Journal of dermatology* 2005, 44, 765-768.
32. Mondello F.; *Funghi patogeni per l'uomo: generalità e prospettive*. Roma: Istituto Superiore di Sanità, 2008. (Rapporti ISTISAN 08/10).
33. Molina-López R.A., Adelantado C., Arosemena E.L., Obòn E., Darwich L. and Calvo M.A. Integument Mycobiota of Wild European Hedgehog (*Erinaceus europaeus*) from Catalonia, Spain. *International Scholarly Research Network ISRN Microbiology* Vol 2012.
34. Moriello KA: Treatment of dermatophytosis in dogs and cats: review of published studies. *Vet Dermatol* 15:99-107, 2004.
35. Morris P, English MP. *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei* in British hedgehogs. *Sabouraudia* 1969;7: 122-128.
36. Nardoni S., Mugnaini L., Papini R., Fiaschi M., Mancianti F. Canine and feline dermatophytosis due to *Microsporum gypseum*: A retrospective study of clinical data and therapy outcome with griseofulvina. *Journal de Mycologie Medicale* (2003) 23, 164-167.
37. Nardoni S., Papini R., Gallo M.G., Verin R., Mancianti F. Survey on the role of brown hares (*Lepus europaeus*, Pallas 1778) as carrier of zoonotic dermatophytes. *Italian Journal of Animal Science*, Vol 9, No 1(2010).
38. Parker WM, Yager JA. *Trichophyton dermatophytosis*-a disease easily confused

- with pemphigus erythematosus. Can Vet J 1997;38:502-5.
39. Pascoe RR. The epidemiology of ringworm in racehorses caused by *Trichophyton equinum* var *autotrophicum*. Aust Vet J 1979;55:403-7.
 40. Perrier P., Monod M. Tinea manuum caused by Trichophyton erinacei: first report in Switzerland 2013 International Society of Dermatology.
 41. Pfaller M.A. and Diekema D.J., "Rare and emerging opportunistic fungal pathogens: concern for resistance beyond Candida albicans and Aspergillus fumigatus", Journal of Clinical Microbiology, vol.42, no.10, pp. 4419-4431, 2004.
 42. Poli G.; Cocilovo A.; Microbiologia e immunologia veterinaria UTET, 1996.
 43. Ranganathan S, Arun Mozhi Balajee S, Mahendra Raja S. A survey of dermatophytosis in animal in Madras, India. Mycopathologia 1997;140:137-40.
 44. Rambelli A. Fondamenti di micologia. Zanichelli, 1981.
 45. Rebel G, Taplin D. Drematophytes: their recognition and identification. Coral gables, FL: University of Miami Press; 1979.p.124.
 46. Rhee DY, Kim MS, Chang SE et al. A case of tinea manuum caused by Trichophyton mentagrophytes var. erinacei: the first isolation in Korea. Mycoses 2009; 52: 287-90.
 47. Rippon JW. Medical Mycology 1988, 3rd Edition, W.B. Saunders Co, Philadelphia, USA.
 48. Robert R, Pihet M. Conventional methods for the diagnosis of dermatophytosis. Mycopathologia 2008;166:295-306.
 49. Romano C, Gianni C, Papini M. Tinea Capitis in infants less than 1 year of age. Pediatr Dermatol 2001; 18: 465-468.
 50. Schauder S, Kirsck-Nietzki M et al. From hedgehog to men. Zoophilic dermatophytosis caused by Trichophyton erinacei in eight patients. Hautzart 2007; 58. 62-7.
 51. Schumacher V., Poehling H.M. In vitro effect of pesticides on the germination, vegetative growth, and conidial production of two strains of *Metarhizium anisopliae*. Elsevier 2011.
 52. Scott DW, Horn RT. Zoonotic dermatoses of dogs and cats. Vet Clin North Am Small Anim Pract 1987;17:117-44.
 53. Scott DW, Miller WH, Griffen CE: Muller and Kirk's small animal dermatology

- (ed 6). Philadelphia PA, W.B. Saunders Company 2001.
54. Sidwell R. U., Chan I., Francis N., Bunker C. B. *Trichophyton erinacei* kerion barbae from a hedgehog with direct osculatory transfer to another person. *Clinical and Experimental Dermatology*, 2014;39,pp38-40.
 55. Simpson JR. Tinea barbae caused by *Trichophyton erinacei*. *Br J Dermatol* 1974; 90; 697-698.
 56. Smith JMB, Marples MJ. *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei*. *Sabouraudia* 1963; 3: 1-10.
 57. Sparkes AH, Gruffid-Jones TJ, Shaw SE, Wright AI, Stokes CR. Epidemiological and diagnostic features of canine and feline dermatophytosis in the United Kingdom from 1956 to 1991. *Vet Rec* 1993;133:57-61.
 58. Sparkes A, Werret G, Stokes CR, Gruffydd-Jones TJ. *Microsporum canis*: inapparent carriage by cats and the viability of arthrospores. *J Small Anim Pract* 1994;35:397-401.
 59. Sparkes AH, Werret G, Stokes CR, Gruffydd-Jones TJ. Improved sensitivity in the diagnosis of dermatophytosis by fluorescence microscopy with calcafluor white. *Vet Rec* 1994;134:307-8.
 60. Spagnesi M., Trocchi V. La lepre: biologia, allevamento, patologia, gestione. Edizioni Edagricole Calderini s.r.l. 1992.
 61. Tampieri MP, Attualità sulla diagnosi di dermatomicosi; parassitologia; 2004, 46 (1-29): 183-186.
 62. Takahashi Y, Sano A, Takizawa K, et al. The epidemiology and mating behavior of *Arthroderma benhamiae* var. *erinacei* in household four-toed hedgehogs (*Atelerix abiventris*) in Japan. *Jpn J Med Mycol* 2003; 44:31-38.
 63. Terreni AA, Gregg Jr WB, Morris PR, Di Salvo AF. *Epidermophyton floccosum* infection in a dog from the United States. *Sabouraudia* 1985; 23: 141-2.
 64. Weitzman I, Chin NX, Kunjukunju N et al: A survey of dermatophytes isolated from human patients in the United States from 1993 to 1995. *J Am Acad Dermatol* 39:255-261, 1998.
 65. Weishaupt J., Kolb-Mäurer A., Lempert S., Nenoff P., Uhrlab S., Hamm H. and Goebeler M. A different kind of hedgehog pathway: tinea manus due to *Trichophyton erinacei* transmitted by an African pygmy hedgehog (*Atelerix albiventris*). *Mycoses*, 2014, 57, 125-127.
 66. Wright AI. Ringworm in dogs and cats. *J Small Anim Pract* 1980;30:242.